

피크린 산에 의한 항히스타민제의 추출분광광도 정량

신태용* · 엄동옥

전주우석대학교 약학과

(Received February 11, 1993)

Extraction Spectrophotometric Determination of Antihistamines with Picric Acid

Tae-Yong Shin* and Dong-Ok Eom

Dept. of Pharmacy, Chonju Woo-Suk University, Chonju 565-800, Korea

Abstract—A spectrophotometric method is proposed for the determination of antihistamines. The method is based on solvent extraction of the ion pair formed between antihistamines and colored picric acid into chloroform. The binding state of antihistamines-picric acid complexes were presumed by IR and $^1\text{H-NMR}$ spectra as intermolecular hydrogen bonding. This method was applicable to the determination of antihistamines in the pharmaceutical preparations.

Keywords □ Diphenhydramine HCl, Chlorcyclizine HCl, Pheniramine maleate, Pyrilamine maleate, Picric acid, Ion pair extraction.

항 히스타민제는 히스타민 수용체에 작용하여 이의 반응을 봉쇄하는 약물로 propylamine 유도체, ethylenediamine 유도체, ethanolamine 유도체, phenothiazine 유도체, piperazine 유도체로 분류되며 대부분 3급 amine 화합물로 구성되어 있다.

이들 항 히스타민제의 분석법으로는 크로마토그래피법(GC 및 HPLC, pheniramine maleate,^{1,3-10,12} pyrilamine maleate,^{1-7,9,12} diphenhydramine hydrochloride,^{1,4,9,11} chlorcyclizine hydrochloride¹¹)이 많이 이용되며, propylamine 유도체인 pheniramine maleate (PA)의 정량법으로는 sulfophthaleine계 색소인 bromthymol blue, bromcresol green을 이용하여 ion pair를 형성시켜 유기 용매의 추출에 의한 정량법,¹³ $^{13}\text{C-NMR}$ 법,¹⁴ 산화제에 의한 형광광도법¹⁵ 등이 알려져 있으며, ethylenediamine 유도체인 pyrilamine maleate(PLA)의 정량법으로 $^{13}\text{C-NMR}$ 법¹⁴과 산화제에 의한 형광광도법¹⁵ 등이 보고되어 있다. 또 ethano-

lamine 유도체인 diphenhydramine hydrochloride (DPH)의 정량법으로는 tetrabromophenolphthalein ethyl ester¹⁶ 및 bromthymol blue, bromcresol purple¹⁷와 ion pair를 형성시켜 유기 용매로 추출 정량하는 방법, dipicrylamine을 이용한 분광광도법,¹⁸ 비수적정법^{19,20} 요오드를 전자 수용체로 한 전하이동착물법,²¹ 산성 azo 색소인 금속 지시약을 이용하는 정량법,²² 산화제에 의한 형광광도법¹⁵이 보고되어 있고, piperazine 유도체인 chlorcyclizine hydrochloride(CCZ)는 비수적정법,¹⁹ 산화제에 의한 형광광도법¹⁵ 등이 보고되어 있으며, picric acid를 이용한 정량법으로는 옥²³ 등이 picric acid를 전자 수용체로 하여 chlorpromazine HCl, promethazine HCl 등의 phenothiazine계 화합물을 정량하였으며, 박²⁴ 등은 지방족 아민류와 4급 암모늄 염류의 이온쌍 형성 기전을 보고한 바 있다.

저자는 항 히스타민제 중 PA, PLA, DPH 및 CCZ의 간편하고 재현성이 있는 품질관리법을 확립할 목적

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

으로 picric acid(PCA)와 ion pair를 형성시켜 클로로포름으로 추출한 다음 추출액의 흡광도를 측정하는 정량법을 확립하였으며, 아울러 생성된 착물에 대하여 IR 및 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼으로 착물의 구조를 추정하였기에 보고하고자 한다.

실험방법

시약—본 실험에 사용한 항 히스타민제는 pheniramine maleate, pyrilamine maleate, diphenhydramine hydrochloride, chlorcyclizine hydrochloride(이상 Sigma Co.)이며 picric acid는 Katayama사의 특급시약을, 완충액은 McIlvaine 완충액을, 기타 시약은 시판 특급품을 정제하지 않고 사용하였다.

장치—흡광도 측정에는 Shimadzu UV-250 spectrophotometer, IR 스펙트럼 측정에는 Bio-Rad FTS-60 infrared spectrophotometer, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼 측정에는 Bruker AMX-500 FT-NMR spectrometer (500 MHz)을 사용하였다. pH 측정에는 Orion Research 920A pH meter를, separating funnel shaker는 DongYang Science Co.의 Model D7-SK0647를 사용하였다.

정량 조작—항 히스타민제의 각 시료 용액(1.0×10^{-5} M ~ 1.0×10^{-4} M) 5 ml를 각각 분액깔대기에 취하고 PCA 용액(1.0×10^{-4} M) 6 ml 및 완충용액(pH 4.0) 10 ml를 가한 다음 클로로포름 10 ml로 5분간 진탕 추출한 후 분액깔대기의 stem에 여과지를 끼워서 클로로포름층을 분취하여 각 착물의 최대 흡수파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조액으로는 공시험한 chloroform용액을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

착물의 흡수 곡선—정량조작에 따라 항 히스타민제와 PCA 착물을 클로로포름으로 추출한 정색액에 대하여 흡수 스펙트럼을 측정한 결과 최대흡수 파장은 PA와 CCZ는 345 nm이며 PLA와 DPH는 350 nm였다.

pH의 영향—정량조작에 따라 착물을 추출할 때 pH에 따른 클로로포름층의 흡광도 변화를 조사한 결과 최적 pH는 PA가 pH 4~5, PLA 및 CCZ는 pH 3~5, DPH는 pH 2.5~4였으며 본 실험에서는 pH 4.0의 완충액을 사용하였다.

검량선—정량조작에 따라 PCA 용액의 농도를 1.0×10^{-4} M로 일정하게 하고 항 히스타민제의 농도를 1.0×10^{-5} M ~ 1.0×10^{-3} M로 변화시키면서 흡광도를 측정한 결과 Fig. 1과 Fig. 2에서와 같이 항 히스타민제의 정량범위는 1.0×10^{-5} M ~ 1.0×10^{-4} M이며 상관계수 0.990 이상의 직선성을 나타내었다.

공존물의 영향—부형제 및 항 히스타민제와 상용되는 15종의 공존물질에 의한 영향을 검토한 결과 Table I에서와 같이 대부분의 공존물질은 본 정량조작에 영향을 주지 않았으나 다만 DPH의 정량에서 promethazine은 방해작용을 하였다.

착물의 검토—착물의 조성을 연속변화법과 몰비법으로 검토한 결과 항 히스타민제와 PCA의 몰비는 전부 1:1이었다. 10^{-3} M 항 히스타민제의 용액과 10^{-3} M PCA 용액의 1:0.9비에 의하여 생성된 착물을 클로로포름으로 추출한 후 실온에서 증발 건조하고 methanol로 재결정하여 얻은 황색의 결정으로 IR 스펙트럼은 KBr disc법으로, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 내부표준물질로 TMS를, 용매는 CDCl_3 를 사용하여 측정하였으며 Fig. 3과 Fig. 4는 DPH와 PCA 착물의 IR 스펙트럼과 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼이다. 착물의 형성으로 전반적인 스펙트럼의 변화가 있었고 PCA의 IR 스펙트럼의 nitro group의 ν_{NO_2} 와 $\nu_{\text{as NO}_2}$ 의 위치가 1343 cm^{-1} 와 1533 cm^{-1} 인데 비해 착물의 스펙트럼에서는 각각 1449 cm^{-1} 와 1559 cm^{-1} 로 이동하였으며 강도가 감소하였다. 3100 cm^{-1} 근처의 PCA의 ν_{OH} 에

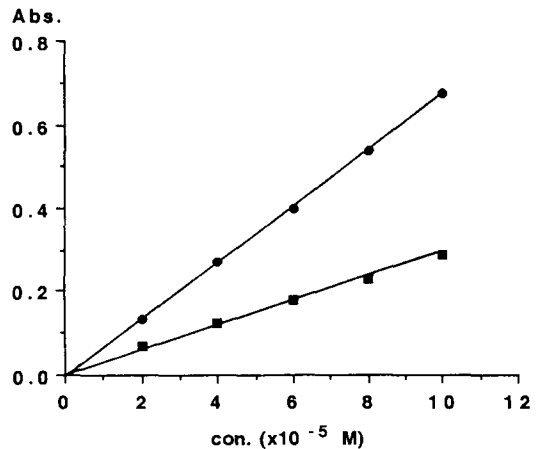


Fig. 1—Calibration curves of PA-PCA (■—■) and DPH-PCA (●—●) complexes.

Table I—Effect of foreign substances on determination of Antihistamines

	added drug	existing ratio	recovery(%)
PA	Glucose	1 : 50	99.4± 0.3
	Lactose	1 : 50	100.3± 0.1
	Starch	1 : 50	101.0± 0.4
DPH	Glucose	1 : 50	99.5± 0.2
	Lactose	1 : 50	100.5± 0.3
	Starch	1 : 50	100.2± 0.3
	Caffeine	1 : 1	101.8± 0.5
	Acetaminophen	1 : 6	99.0± 0.2
	Ascorbic acid	1 : 0.5	98.1± 0.4
	Pyridoxin	1 : 0.1	98.5± 0.3
	Nicotinamide	1 : 0.3	101.0± 0.2
	Aminophylline	1 : 10	99.2± 0.1
	Ephedrine	1 : 1	99.1± 0.2
	Calcium Phosphate dibasic	1 : 0.5	99.7± 0.4
	Phenobarbital	1 : 1	99.5± 0.3
	Salicylic acid	1 : 2	99.3± 0.5
	Scopolamine	1 : 0.05	100.6± 0.5
	Resorcin	1 : 10	101.6± 0.5
	Glycerin	1 : 20	99.5± 0.4
	Guaifenesin	1 : 4	101.1± 0.2
Promethazine	1 : 1.5	150.5± 0.5	
CCZ	Glucose	1 : 50	99.5± 0.2
	Lactose	1 : 50	100.1± 0.4
	Starch	1 : 50	99.8± 0.4
PLA	Glucose	1 : 50	99.7± 0.1
	Lactose	1 : 50	98.6± 0.5
	Starch	1 : 50	99.4± 0.2

*Mean value of three determinations

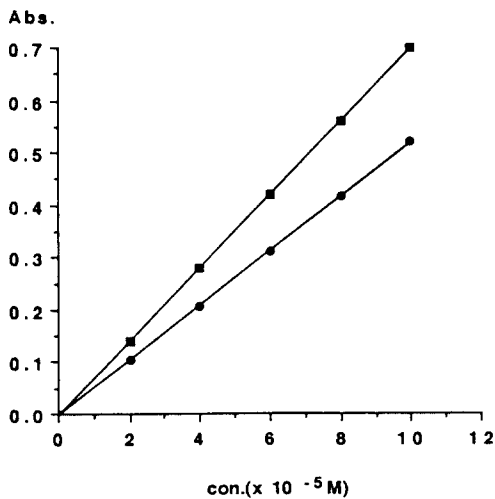


Fig. 2—Calibration curves of PLA-PCA (●—●) and CCZ-PCA (■—■) complexes.

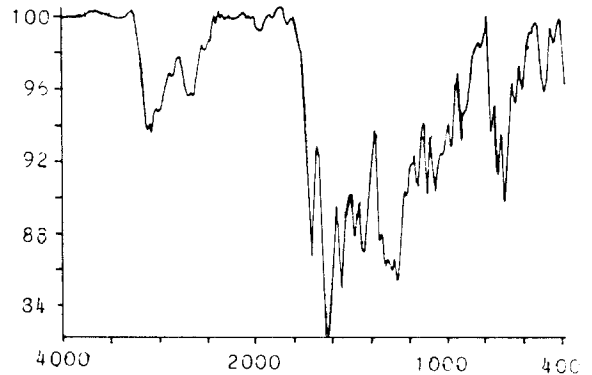


Fig. 3—IR spectrum of DPH-PCA complex.

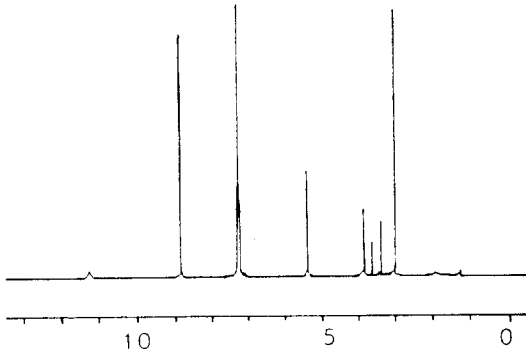


Fig. 4—NMR spectrum of DPH-PCA complex.

의한 peak가 착물에서는 shift되어 있고 강도가 감소하였으며 $2000\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 의 사이에 분자간 수소 결합으로 인한 NH^+ stretching peak가 나타나 있다. NMR 스펙트럼은 착물의 형성으로 PCA의 aromatic OH proton의 화학적 이동이 11.94 ppm에서 11.26 ppm으로, aromatic proton은 9.21 ppm에서 8.80 ppm으로 이동하였으며 $\text{N}-(\text{CH}_3)_2$ 의 peak가 2.87 ppm에서 3.01 ppm으로 이동하였다.

이상의 결과로 DPH-PCA 착물은 DPH의 질소와 PCA의 OH 사이에 분자간수소결합으로 이루어진 것으로 추정된다.

결 론

1. 수종의 항 히스타민제와 PCA간의 착물 형성에 의한 용매 추출법으로 신속하고 재현성 있는 정량법을 확립하였으며 정량범위는 $1.0 \times 10^{-5}\text{ M} \sim 1.0 \times 10^{-4}\text{ M}$ 이며 상관계수는 0.990 이상의 직선성을 나타내었다.

2. 항 히스타민제와 PCA의 착물 조성비는 1 : 1이었으며 IR 및 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼에 의하면 항 히스타민제와 PCA 사이에는 분자간수소결합으로 이루어진 것으로 추정된다.

문 헌

- 1) Dacdonald, Jr. and Pelaum, R. T.: Gas chromatography of some antihistamines. *J. Pharm. Sci.*, **53**, 887-891 (1964).
- 2) Rader, B. R. and Aranda, E. S.: Quantitative deter-

mination of some signal and multiple component drugs by gas-liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.*, **57**, 847-851 (1968).

- 3) Spriek, T. L.: High-pressure liquid chromatographic determination of adrenergic and antihistaminic compounds in pharmaceutical preparations. *J. Pharm. Sci.*, **63**, 591-593 (1974).
- 4) Honigberg, I. L., Stewart, J. T. and Smith, A. P.: Liquid chromatography in pharmaceutical analysis: Determination of cough-cold mixtures. *J. Pharm. Sci.*, **63**, 766-769 (1974).
- 5) Gupta, V. D. and Ghanekar, A. G.: Quantitative determinations of codeine phosphate, guaifenesin, pheniramine maleate, phenylpropranolamine hydrochloride and pyrilamine maleate in an expectorant by high-pressure liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.*, **66**, 895-897 (1977).
- 6) Koziol, T. R., Jacob, J. T. and Achari, R. G.: Ion-pair liquid chromatographic assay of decongestants and antihistamines. *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1135-1138 (1979).
- 7) Heidemann, D. R.: High-pressure liquid chromatographic determination of methscopolamine nitrate, phenylpropranolamine hydrochloride, pyrilamine maleate and pheniramine maleate in tablets. *J. Pharm. Sci.*, **70**, 820-822 (1981).
- 8) Roas, R. W. and Lau-Cam, C. A.: General reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the separation of drugs using triethylamine as a competing base. *J. Chromatogr.*, **370**, 403-418 (1986).
- 9) Black, D. B. and Lodge, B. A.: Isolation and identification of hydrocodone in narcotic cough syrups by high-performance liquid chromatography with infrared spectrometric identification. *J. Chromatogr.*, **358**, 438-443 (1986).
- 10) El-Gizawy, S. M. and Ahmed, A. N.: High-performance liquid chromatographic determination of mepyramine maleate, pheniramine maleate and phenylpropranolamine hydrochloride in tablets and drops. *Analyst*, **112**, 867-869 (1987).
- 11) Selinger, K., Prevost, J. and Hill, H. M.: High-performance liquid chromatography method for the determination of diphenhydramine in human pla-

- sma. *J. Chroatogr.*, **526**, 597-602 (1990).
- 12) Cezawi, S. EL., Omar, N., Rabbat, N. EL. and Perin, J. H.: Analysis of some dosage forms containing pyridine derivatives using a cyclodextrin bonded stationary phase in HPLC. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **6**, 393-398 (1988).
 - 13) Hirioka, M. and Ishioka, H.: Colorimetric determination of organic base preparations with sulfophthalein dyes III. Determination of propylamine antihistamines in pharmaceutical preparations. *Yakugaku Zasshi*, **81**, 76-79 (1961).
 - 14) Chang, C. J. and Peak, G. E.: carbon-13 magnetic resonance spectroscopy of drugs: Antihistamines. *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1019-1023 (1976).
 - 15) Jesen, R. E. and Pflaum, R. T.: Fluorometric study of antihistamines. *J. Pharm. Sci.*, **53**, 835-837 (1964).
 - 16) Tsubouchi, M.: Spectrophotometric determination of diphenhydramine in pharmaceutical preparations. *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **43**, 3164-3166 (1970).
 - 17) Matsui, F. and French, W. N.: Analysis of binary mixture of pharmaceutical amines by the acid dye technique. *J. Pharm. Sci.*, **60**, 287-291 (1971).
 - 18) Shamsa, F. A. and Maghssoudi, R. H.: Spectrophotometric determination of diphenhydramine hydrochloride using dipicrylamine. *J. Pharm. Sci.*, **65**, 761-762 (1976).
 - 19) Mainvill, C. A. and Chatten, L. G.: Scope of acetonitrile as a solvent in the nonaqueous titration of organic medicinals. *J. Pharm. Sci.*, **53**, 154-157 (1964).
 - 20) Soliman, S. A., Abdine, H. and Zakhari, N. A.: Indirect nonaqueous titration of hydrochloride of nitrogenous bases. *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1767-1770 (1974).
 - 21) Moon, H. S. and Baik, C. S.: Spectrophotometric determination of antihistaminics by using iodine as electron acceptor. *Yakhak Hoeji*, **33**, 141-148 (1989).
 - 22) Ock, C. W.: Spectrophotometric determination of antihistamines by using metal indicators NN, ETB and Calcon as color developing agent. *J. Korean Pharm. Sci.*, **18**, 133-144 (1974).
 - 23) Ock, C. W. and Shin, T. Y.: Spectrophotometric determination of phenothiazine derivatives by using picric acid as electron acceptor. *Yakhak Hoeji*, **31**, 322-329 (1987).
 - 24) Kim, B. K., Rhee, J. S., Jang, S. K., Lah, W. Y. and Ock, C. W.: Ion pair extraction of aliphatic amines and quaternary ammonium salts by picric acid. *Yakhak Hoeji*, **35**, 182-189 (1991).